

Tömegspektrometriás mérések az ELTE (20) részfeladathoz kapcsolódóan

Összeállította: Schlosser Gitta

Részterület: Tömegspektrometriás molekulatömeg-meghatározás és szerkezetvizsgálat

A méréseket a pályázat első szakaszában az ELTE Biológiai Intézet alagsor 00.208 és 00.209 laboratóriumokban elérhető Thermo Scientific Q Exactive Focus orbitrap MS/MS tömegspektrométerrel végeztük, amelyhez Dionex UltiMate 3000 UHPLC rendszer csatlakozik. 2020 májusában az ELTE Kémiai Intézet 6.105 laboratóriumában beüzemeltünk egy Waters Select Series Cyclic IMS, kvadrupol-repülési idő tömegspektrométert is, amelyhez Waters I-Class UHPLC rendszer csatlakozik. Ettől az időponttól kezdve mindkét műszeren végeztünk méréseket. A Thermo rendszeren túlnyomórészt pontos molekulatömeg-meghatározásokat végzünk kismolekulák és peptidok esetén, a Waters tömegspektrométerrel ezeken felül fehérjék intakt molekulatömeg-meghatározása, komplex fehérjeminták peptidterképezése, proteomikai elemzése, nemkovalens komplexek, klaszterek tanulmányozása is megvalósítható.

A nyers mérési adatok a Thermo rendszer esetén külső merevlemezre mentve érhetőek el a műszerfelelősnél, a Waters készülék esetén pedig az adatok a laboratóriumban található számítógépeken találhatóak. Mindkét laboratóriumban műszernaplót vezetünk az adott műszer használatáról. A mérési eredményeket a műszerhez tartozó szoftverrel kiértékelve, asszignálva továbbítjuk a kutatók részére.

A HunProtExc program keretében végzett mérések digitalizált műszernapló-kivonatát Függeléként csatoljuk.

Részterület: Proteomikai elemzések

A projekt első részében a proteomikai minták tömegspektrometriás elemzése a Természettudományi Kutatóközpontban történt, amelyhez egy Bruker Maxis II ETD tömegspektrométert használtunk Thermo Dionex UltiMate 3000 UHPLC-vel kapcsolva. A pályázat ideje alatt az ELTE Kémiai Intézetben beüzemelt új LC-MS/MS rendszer ezenfelül szintén alkalmas proteomikai minták elemzésére. A munka során megtörtént a műszer üzembe helyezése és folyamatosan folyik a felhasználók, valamint hallgatók oktatása, képzése. A tömegspektrometriás elemzésekhez MS^e típusú, összion-fragmentációra alapuló, kétlépcsős MS/MS módszert dolgoztunk ki. Optimalizáltuk a kromatográfiás elválasztást, amelyhez 1 mm belső átmérőjű mikroanalitikai oszlopokat használunk. A tömegspektrometriás detektálás során az ionforrást alacsony áramlási sebességű elektropray ionforrással üzemeltetjük. A kidolgozott mérési körülmények alkalmasak gélből történő fehérjeazonosításra 1D és 2D gélek esetén is, továbbá „shotgun” megközelítés szerint fehérjekeverékek közvetlen, előszeparáció nélküli vizsgálatára, enzimatis hasítás után.

FÜGGELÉK

- A Thermo Scientific Q Exactive Focus orbitrap tömegspektrométerrel végzett mérések kivonata (műszernapló kivonata, karbantartási adatok nélkül)
- A Waters Select Series Cyclic IMS Q-TOF tömegspektrométerrel végzett mérések kivonata (műszernapló kivonata, karbantartási adatok nélkül)